

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Katarina Orlović, apsolvent

Diplomski studij: Povrćarstvo i cvjećarstvo

UTJECAJ REGULATORA RASTA NA KLIJAVOST LIJEPE KATE (*Callistephus chinensis* (L.) Ness)

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Katarina Orlović, apsolvant

Diplomski studij: Povrćarstvo i cvjećarstvo

UTJECAJ REGULATORA RASTA NA KLIJAVOST LIJEPE KATE (*Callistephus chinensis* (L.) Ness)

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković, predsjednik
2. dr.sc. Monika Tkalec Kojić, mentorica
3. izv.prof.dr.sc. Miro Stošić, član

Osijek, 2019.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Cilj istraživanja	3
2. PREGLED LITERATURE	4
2.1. Klijavost <i>Callistephus chinensis</i>	4
2.2. <i>In vitro</i> razmnožavanje	5
2.3. <i>In vitro</i> hranjiva podloga	7
2.4. Regulatori rasta	7
2.4.1. Auksini	8
2.4.2. Citokinini	9
2.4.3. Giberilini	10
2.4.4. Apsicisnska kiselina	10
2.4.5. Etilen	11
2.5. Utjecaj hormona na <i>Callistephus chinensis</i>	11
3. MATERIJAL I METODE	14
3.1. Ispitivanje klijavosti na filter papiru	14
3.2. Ispitivanje klijavosti na <i>in vitro</i> hranjivoj podlozi	16
3.2.1. Oprema i pribor korišteni za <i>in vitro</i> uzgoj	16
3.2.2. Priprema i sterilizacija hranjive podloge	17
3.2.3. Sterilizacija biljnog materijala i uvođenje u kulturu	19
4. REZULTATI	21
4.1. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate na filter papiru	21
4.2. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate <i>in vitro</i>	23
5. RASPRAVA	27
5.1. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate na filter papiru	27
5.2. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate <i>in vitro</i>	28
6. ZAKLJUČAK	31
7. POPIS LITERATURE	32
8. SAŽETAK	36
9. SUMMARY	37
10. POPIS TABLICA	38
11. POPIS SLIKA	39
12. POPIS GRAFIKONA	40
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKAKARTICA	41
BASIC DOCUMENTATION CARD	42

1. UVOD

Callistephus chinensis (L.) Ness jednogodišnja je cvjetna vrsta koja pripada redu *Asterales* i porodici *Asteraceae* (glavočike). Jedina je vrsta koja pripada rodu *Callistephus*. Potječe iz Kine, od davnina se smatrao simbolom ženstvenosti, elegancije i ljepote. Danas se udomaćio na mnogim područjima i uzgaja se kao ukrasna biljka na otvorenom.

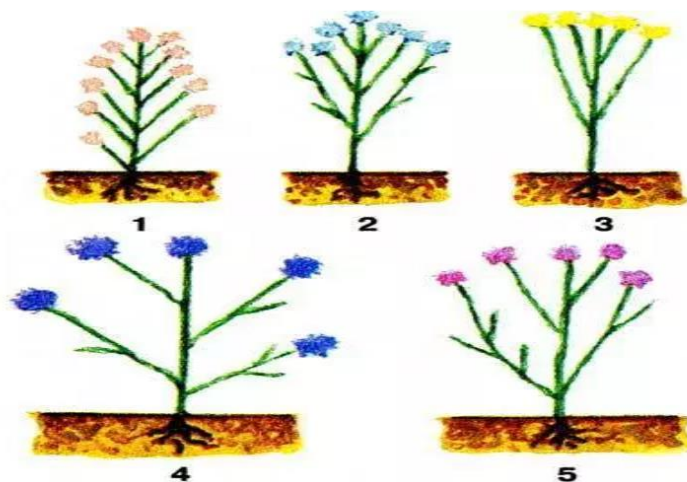
Callistephus je u svijetu poznat pod raznim nazivima kao što su: *China aster*, *Annual aster* (eng.), *Garten aster* (njem.) i dr. U Hrvatskoj su ustaljeni sljedeći narodni nazivi: ljetni zvjezdan, vrtni zvjezdan, jesenka, lijepa kata, katarinka i ficeka. Latinski naziv *Callistephus* je grčkog porijekla, *kalli* u prijevodu znači „lijep“, a *stephos* je u prijevodu „vijenac“ što se odnosi na izgled cvjetne glavice koja nalikuje na vijenac. Ime cvijetu dao je francuski botaničar Antoine Jussier sredinom 18. stoljeća. Riječ *aster* u doslovnom prijevodu znači „zvijezda“ (plantea.com).

Vrtni zvjezdan ima razgranat i vretenast korijen. Većinom se nalazi na dubini od 15 do 20 cm i ima veliku moć regeneracije. Stabljika je uspravna i obrasla dlačicama. Na površini se mogu vidjeti uzdužne brazde. Boja stabljike varira od zelene do crvenkaste, a visina od 20 do 90 cm. Listovi su postavljeni naizmjenično, tamno zelene boje, ovalnog oblika sa nazubljenim rubovima. Narastu od 3 do 8 cm dužine i od 3 do 5 cm širine. Cvjetovi su dvospolni, skupljeni u cvjetne glavice najčešće promjera 3 do 11 cm. Kod nekih sorti cvat dostiže promjer od 18 do 20 cm. Središte cvijeta je svjetlo žuto, okolo se nalaze brojne cjevaste latice različitih boja. Ovisno o vrsti, mogu se naći u rasponu boja od bijele, krem, ružičaste, crvene i ljubičast. Ne postoje samo zelene i narančaste. Cvjetovi mogu biti i različitih oblika. Cvatnja obično traje od srpnja do kasne jeseni, do pojave jakih mrazeva. Plod je sjeme koje ovisno o sorti može biti različite veličine i oblika. Sjeme je najčešće stožastog oblika i ostaje u sredini cvijeta pa ga je lako skupiti (optolov.ru).



Slika 1. *Callistephus chinensis*, (Izvor: <https://i.pinimg.com>)

Danas u svijetu prisutni su mnogi kultivari sa različitim svojstvima. Prema obliku grma: piramidni, stupasti, ovalni, široko rasprostranjeni i široko gusti grmovi (Slika 2.). Prema visini stabljike postoje: patuljasti (do 25 cm), kratki (do 35 cm), srednje visoki (do 65 cm), visoki (do 80 cm) i divovski (više od 80 cm). Visoki se uzgajaju za rezano cvijeće. Prema veličini cvati postoje: male (promjer do 4 cm), srednje (promjer 8 cm), velike (promjer 9-11 cm), divovske (promjer više od 12 cm). Prema obliku i veličini cvjetova dijele se na: jednostavne, dugmaste, loptaste, rasperjane i krizantemaste i dr. Prema vremenu cvatnje: rane (od početka/sredine srpnja do rujna), srednje (od kraja srpnja do početka kolovoza), kasne (od sredine do kraja kolovoza) (optolov.ru).



Slika 2. Podjela *Callistephus chinensis* prema obliku grma (Izvor: <https://optolov.ru>)

Callistephus chinensis se razmnožava samo sjetvom sjemena, najčešće direktno u vrt u travnju i svibnju. U klijališta se siju od ožujka a sadnice se presađuju početkom ljeta. Zvezdan voli dobro osvijetljeno mjesto, zaklonjeno od jakog vjetera. Najbolje uspijeva na umjereno vlažnom i dobro dreniranom tlu te zahtjeva redovito zalijevanje.

Najčešća bolest prisutna kod Zvezdana je *Fusarium*. Kako bi se izbjegla pojava bolesti potrebno je tretirati tlo fungicidima, osigurati biljkama dovoljno zraka sadnjom na pravilnu udaljenost, izbjegavati stagnaciju vlage i ne saditi biljke svake godine na isto mjesto. Preporuča se plodored od 5 godina.

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog rada je ispitati utjecaj različitih koncentracija regulatora rasta na klijavost *Callistephus chinensis* na filter papiru i *in vitro* hranjivoj podlozi.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Klijavost *Callistephus chinensis*

Zrele sjemenke lijepe kate ubrane u ranu jesen imale su najveći volumen i bolju klijavost od sjemenki dobivenih u kasnu jesen. Najpogodnija temperatura za klijanje sjemena je od 5 do 15 °C, odmah nakon berbe (Grzesik i sur., 1997.).

Svojstva sjemena poboljšavaju se različitim tretmanima. Metode opskrbe sjemena vodom značajno utječu na brzinu i dinamiku klijanja. Sjemenke lijepe kate koje su u prekomjernoj količini natopljene destiliranom vodom u trajanju od 0 do 1440 min (omjer sjemena i vode 1:3) najbrže su usvojile vodu i time najranije proklijale. Najpovoljnije za klijanje je sposobnost upijanja vlage do 37 % i inkubacija do 8 dana na temperaturi od 20 °C (Badek i sur., 2006.).

Feng (2010.) je tretirao sjemenke *Callistephus chinensis* u mikrovalnoj pećnici (850 W). Mikrovalna obrada sjemena nije pozitivno utjecala na vitalnost sjemena. Tretiranje sjemena u suhom stanju tijekom 120 i 180 s i u vodi tijekom 180 sekundi rezultiralo je gubitkom održivosti sjemena, odnosno tretiranje dulje od 20 s negativno je utjecalo na ukupan broj klijavih sjemenki. Sjemenke tretirane u vodi održavaju visoke vrijednosti maksimalne klijavosti do 90 s. Tretiranje sjemena u vodi na 60 s nije negativno utjecalo na kapacitet klijanja.

Sjeme *Callistephus chinensis* tretirano je s „Micro-Cel E“ i proučavani su njegovi učinci na sjeme. Utvrđeno je da su optimalni uvjeti za tretiranje sjemena tijekom 5 dana na temperaturi od 15 °C. Tretiranjem se povećao postotak klijavosti, nicanje sadnica i otpornost na mraz. Smanjeno je srednje vrijeme klijanja na temperaturama od 5 do 30 °C i štetni učinak ograničene opskrbe vodom na svojstva sadnica. Također je dokazano da je kod tretiranog sjemena smanjeno propuštanje elektrolita, a oslobađanje endogenog etilena je povećano u usporedbi sa netretiranim sjemenom (Grzesik i sur., 2000.).

Mitrović (2015.) je ispitivao klijavost netretiranog sjemena *Callistephus chinensis* i rezultate usporedio sa podacima koji se nalaze na deklaraciji sjemena. Sjeme je bilo postavljeno na destiliranom vodom navlaženi filter papir u petrijevim zdjelicama. Pokus je postavljen u

klima komoru na plavo i bijelo svjetlo na režim 12h „dan“, 12h „noć“ na temperaturi 23 ± 1 °C. Rezultati istraživanja pokazali su klijavost lijepe kate 82,76 % što je za 4,24 % manje od propisane na deklaraciji proizvođača te da je riječ o vrlo dobrom sjemenu.

2.2. *In vitro* razmnožavanje

Tehnike kulture biljnog tkiva i stanica omogućuju istraživanje na mnogim razinama: molekularnoj, staničnoj i razini čitava organizma, a primjenjuju se za istraživanja u biologiji, biokemiji, fiziologiji, genetici i molekularnoj biologiji. Također, kultura biljnoga tkiva postala je sastavni dio istraživanja oplemenjivanja poljoprivrednih, hortikulturalnih i drvenastih biljaka i važan dio biljne biotehnologije. Za ovaj način razmnožavanja biljaka postoji mnogo sinonima: *in vitro* uzgoj, mikropropagacija, kultura tkiva, mikrorazmnožavanje, kloniranje biljak i dr. Najčešće se upotrebljava termin „kultura *in vitro*“, što znači „u staklu“ budući da se kulture većinom uzgajaju u staklenim posudama (Dubravec i Regula, 1995.).

In vitro razmnožavanje temelji se na iskorištavanju sitnih dijelova biljke u potpuno čistim, sterilnim uvjetima. Dobivaju se potpuno zdrave biljke, u malom prostoru i u mnogo kraćem vremenskom roku u odnosu na konvencionalan uzgoj. Osim dobivanja biljaka bez patogena *in vitro* metoda pruža i očuvanje zdravih matičnih biljaka. Dokazano je kako *in vitro* razmnožavanje vegetativnih vrškom može biti lako primijenjeno na velikom broju biljaka. U slučajevima gdje je većina biljke zaražena nekim mikroorganizmom, vegetacijski vršak je ostao ne zaražen (Jelaska, 1994.).

Haberlandt (1902.) je prvi uočio važnost totipotentnosti biljne stanice. Vjerovao je da biljne stanice u određenim uvjetima imaju sposobnost razviti novu odraslu biljku. Nakon više od pola stoljeća znanstvenici su pokusima dokazali Haberlandtove tvrdnje. Robbins i Haberlandtov student Kotte (1922.) prenosili su cijele meristeme izolirane iz korjenčića klijanaca trava u tekući medij. Takav medij sastojao se od anorganskih soli i glukoze.

Primijećeno je da za uspješan rast kulture biljnog tkiva moraju biti osigurani sterilni uvjeti. Bakterije, gljivice i kvasci kada se nađu u kulturi tkiva, postaju konkurenti za hranidbene sastojke. Mikroorganizmi se brže razmnožavaju, a isto tako stvaraju toksine koji uništavaju

biljne stanice. Gljivice, kvasci i bakterije na hranjivoj podlozi u *in vitro* uzgoju većinom stvaraju okom vidljive kolonije. Međutim, kod nekih, osobito bakterija, kolonije nisu vidljive, oni se opisuju kao pritajeni. Kontaminacija pritajenim bakterijama smanjuje umnožavanje izdanka u fazi multiplikacije, stopu zakorjenjivanja ili potiče smrt (Jelaska, 1994.).

Osim mikroorganizama, izvor infekcije u kulturi *in vitro* može biti:

1. zaraženost biljnog materijala
2. nedovoljno sterilizirana hranjiva podloga
3. kontaminacija zrakom
4. zaraženost uzrokovana osobom koja radi (nepažljivi rad)

Prema Jelaska (1994.) prednosti i nedostaci *in vitro* razmnožavanja u odnosu na konvencionalno su:

prednosti

1. *in vitro* je brže od *in vivo*
2. mogućnosti razmnožavanja onih biljaka koje *in vivo* nije moguće
3. biljke rastu brže i snažnije
4. razmnožavaju se samo zdrave biljke
5. brzo postavljanje pokusa za ispitivanje jer je potrebno malo početnog materijala
6. ušteda sredstava (grijanje staklenika, prostora), za *in vitro* potrebno manje prostora
7. mogućnost vremenskog planiranja proizvodnje radi optimalnih uvjeta

nedostaci

1. niska genetička stabilnost u nekim sustavima razmnožavanja *in vitro*
2. moguće loše značajke kulture nakon prijenosa u *in vivo* uvjete
3. kod drvenastih kultura problematično potaknuti zakorjenjivanje reznica
4. zahtjevan prijenos nekih vrsta iz *in vitro* u *in vivo*
5. mikroklonirani genotip može biti osjetljiv na bolesti
6. moguć gubitak regenerativne sposobnosti nakon određenog broja supkultura kalusnog tkiva
7. u nekim slučajevima teška sterilna izolacija eksplantata

8. opsežan rad i relativno visoka cijena proizvedenih biljaka

2.3. *In vitro* hranjiva podloga

U *in vitro* proizvodnji, hranjiva podloga je medij rasta u kojem uzgajane biljke imaju sve potrebno za svoj razvoj. Sastav hranjive podloge, potrebne tvari u pravilnom obliku i omjeru, najvažniji je čimbenik za uspješnu proizvodnju kulture tkiva. Kada ova metoda još nije bila u potpunosti istražena, upotrebljavao se sastav podloge po White-u (1963.). Takva podloga se i danas upotrebljava jer sadrži sve tvari koje su biljnoj stanici potrebne. Kasnije je zapaženo da prisutnost određene koncentracije soli u hranjivoj podlozi ne održava optimalan rast kulture tkiva (Jelaska, 1994.). Risser i White (1964.) te Reinert i White (1956.) radili su na obogaćivanju mješavina soli, dodavali su ekstrakt kvasca, aminokiseline, kokosovo mlijeko ili druge organske dodatke.

Sastav podloge koje se danas upotrebljavaju razlikuje se ovisno o tome o kojoj kulturi je riječ, no bez obzira na to, svaka podloga mora sadržavati mineralne soli, ugljikohidrate, vitamine i regulatore rasta. Najčešće i za najviše kultura se koristi MS (Murashige i Skoog, 1962.) hranjiva podloga. Postoji i LS (Linsmeyer i Skoog, 1965.) podloga, prema sastavu organskih soli identična je MS podlozi, razlikuju se po organskim dodacima. Dokazano je kako organske tvari djeluju na rast stanica. Potrebe biljaka za organskim dodacima nadoknađuju su se dodavanjem anorganskih soli, osobito dušika, šećera i vitamina (Jelaska, 1994.). White je 1934. godine u svojim istraživanjima koristio vitamine tiamin, piridoksin i nikotinska kiselina te se oni upotrebljavaju i danas.

Murashige i Skoog (1962.) objavili su detaljan opis pripreme hranidbene podloge za kulturu tkiva duhana. Takva podloga, s manjim preinakama, postala je osnovna hranidbena podloga za razmnožavanje *in vitro*.

2.4. Regulatori rasta

Biljni hormoni su skupina prirodnih organskih tvari koje utječu na fiziološke procese pri niskim koncentracijama. Biljni hormoni također se nazivaju fitohormoni ili regulatori rasta (Davies, 2010.). Yakhin i sur. (2017.) navode sljedeću definiciju biostimulatora:

„Formulirani proizvod biološkog porijekla koji poboljšava produktivnost biljaka kao posljedicu novih ili nastajućih svojstava kompleksa sastojaka, a ne kao jedina posljedica prisutnosti poznatih esencijalnih biljnih tvari, regulatora rasta ili zaštitnih spojeva biljaka.“

U regulatore rasta, koji su odgovorni za procese rasta i razvitka biljaka, ubrajaju se auksini, citokinini, giberelini, abscisinska kiselina (ABA) i etilen. Biljke koje se razmnožavaju *in vitro* za rast i razvoj zahtijevaju određenu količinu hormona, odnosno regulatora rasta (Parađiković, 2014.).

Biljni hormoni rijetko djeluju sami, za većinu procesa djeluju s drugim tvarima kako bi proizveli konačan učinak. Uz „klasične hormone“ (auksini, citokinini, giberelini, abscisinska kiselina, etilen) otkrivaju se i nove, prirodne tvari u tim kategorijama, odnosno stalno se sintetiziraju novi strukturno srodni spojevi. Postoji mnogo kemijski nepovezanih spojeva sa aktivnošću sličnim hormonima. Nedavno otkrivene tvari prirodnog rasta koje imaju regulatorne uloge slične fitohormonima su poliamini, oligosaharini, salicilati, jasmonati, steroli, brasinosteroidi, dehidrodiconiferil alkoholni glukozidi, turgorini, sistemmin, nepovezanih prirodnih stimulatora i inhibitora (Gaspar i sur., 1996.).

Studije pokazuju da su hormoni, kao što su: abscisinska kiselina (ABA), auksin, giberelilna kiselina (GA), citokinin (CK), brasinosteroidi (BR) i dr., uključeni u signalne putove obrane biljaka od stresa ali njihova uloga u obrani biljaka nije u potpunosti proučena (Bari i Jones, 2009.).

2.4.1. Auksini

Auksini su prvi otkriveni biljni hormoni. Najčešće se koristi prirodni auksin indol-3- octena kiselina (IAA), koja je prirodni produkt metabolizma biljaka. Sintetski auksini su indol-maslačna kiselina (IBA), 1-naftiloctena kiselina (NAA) i 2,4-diklorfenoksiocena kiselina (2,4-D), i primjenjuju se u koncentracijama od 0,01-10 mg/l. Prirodni auksin (IAA) u usporedbi sa sintetskim pokazuje brži efekt (Parađiković, 2014.). Fiziološko djelovanje auksina je produženi rast stanica, regulacija reakcija na osvjetljenje i gravitaciju, produžni rast vršnog meristema, odgađanje otpadanja listova i plodova u ranijim fazama razvoja, razvoj bočnog i adventivnog korijenja, razvoj plodova i indukcija partenokarije (Teklić, 2012.).

U većim koncentracijama u kulturi *in vitro* mogu izazvati veću proliferaciju kalusnog tkiva (Parađiković, 2014.). 1934. godine Gauthert je produžio rast vrba kalusa dodavanjem u hranjivu podlogu indolil-3-očetnu kiselinu (IAA).

2.4.2. Citokinini

Van Overbeek i suradnici (1941.) primijetili su da kokosovo mlijeko potiče rast mladih embrija. U kombinaciji sa auksinom, kokosovo mlijeko potaknulo je diobu stanica kod vrsta gdje to nije bilo moguće. Istraživanja s kokosovim mlijekom omogućila su otkrivanje druge grupe biljnih hormona, nakon auksina. 1954. godine Skoog je postavio kulturu na podlogu koja je sadržavala auksin. Kalus je neko vrijeme bio aktivan ali je prestao rasti. Kultiviranjem tkiva na mediju kojem su dodani kokosovo mlijeko, ekstrakt kvasca ili stari uzorak DNA iz sperme ribe sleđa postignuta je njegova proliferacija. Svježi uzorak DNA nije poticao rast. Tek kada su ga autoklavirali on je postao stimulator za proliferaciju stanica. Rezultati su upućivali na to da je aktivna komponentna produkt raspadajuće DNA. 1955. godine kao aktivna tvar određen je 6-furfurilaminopurin koji je Skoog nazvao kinetin (Dubravec i Regula, 1995.).

Citokinini su pronađeni kao rezultat istraživanja tvari koje stimuliraju diobu stanica (citokinezu). Nekolikog godina nakon otkrića kinetina iz endosperma kukuruza izolirana je tvar koja je imala sličan fiziološki učinak na diobu stanica kao i kinetin. Prvi prirodni citokinin je zeatin. Sintetski citokinini nisu pronađeni u biljka, a najpoznatiji su difenilurea tipovi citokinina, koji se često koriste kao herbicidi (Lazarević i Polja, 2019.).

Osnovna uloga citokinina je stimulacija diobe stanica. Utječu na kretanje organskih tvari iz drugih dijelova biljke prema mladim listovima i plodovima, sprječavaju starenje lista, sprječavaju gubitak klorofila djelujući na usporavanje razgradnje klorofila, reguliraju dotok hraniva u biljci. Također utječu i na sintezu proteina i RNK, smanjuju brzinu starenja biljaka i ukidaju dormantnost sjemena (Parađiković, 2014.). Citokinini su važne signalne molekule za regulaciju rasta i razvoja tijekom života biljke (Osugi i Sakakibara, 2015.).

U istraživanju koje su proveli Werner i sur. (2001.) biljke s nedostatkom citokinina razvile su zakržljale mladice s manjim apikalnim meristemima. Proizvodnja lisnih stanica iznosila je samo 3 – 4 %, što ukazuje na apsolutni zahtjev citokinina za rast lista.

Mjesto sinteze citokinina je vegetacijski vrh korijena i preko ksilema se transportiraju do drugih dijelova biljke. Osim u korijenu, mogu se sintetizirati u mladim embrijima sjemenki, mladom lišću i mladim plodovima. Citokinini se vrlo brzo razgrađuju u biljnim tkivima (Lazarević i Polja, 2019.).

Uključivanje citokinina u hranidbene podloge omogućilo je izolaciju kalusnih kultura kod velikog broja biljnih vrsta i potaknulo stvaranje organiziranih struktura u nekim od tkiva (Dubravec i Regula, 1995.). Od prirodnih citokinina najčešće se u kulturi *in vitro* koristi zeatin. Od sintetskih citokinina koriste se: 6 furfurilaminopurin (kinetin - KIN), 6-benzilaminopurin (BAP) i izopentilaminopurin (2iP). Njihove koncentracije kreću se od 1 do 10 mg/L. Citokinini i auksini su neophodni hormoni u hranljivim podlogama za *in vitro* uzgoj biljaka. Povoljan odnos auksina i citokinina u kulturi *in vitro* može odrediti smjer razvoja u pravcu nadzemnog izdanka i korijena (Parađiković, 2014.).

Skoog i Miller (1957.) istraživali su utjecaj različitih koncentracija auksina i kinetina i na rast korjenčića i izdanaka u kalusu srčike duhana. Dodavanjem veće koncentracije kinetina u odnosu na auksin poticao se rast pupova i izdanaka, a većim koncentracijama auksina u odnosu na kinetin poticao se rast korijenja. Kod podjednakih koncentracija tkivo raste kao nediferencirani kalus. Ako nedostaje kinetin ili je prisutan u prevelikim koncentracijama, rast tkiva prestaje.

2.4.3. Giberilini

Giberilini su izolirani 1954. godine. Giberilini utječu na izduživanje, djeluju na razvoj cvjetova, mirovanje sjemena i pupoljaka, partenokarpiju, aktiviranje nekih gena i stimulaciju klijanja sjemena. Giberilinska kiselina, GA3 (otkrivena treća po redu) je najpoznatija i ima najjači fiziološki efekt, utječe na izduživanje internodija pa se tako primjenjuje za brži rast i izduživanje izdanka, prije njegovog zakorjenjivanja. Negativno utječe na stvaranje adventivnih izdanaka i korijena. U *in vitro* kulturi najčešće se koristi hormon GA3 sa koncentracijom od 1,0 do 10 mg/l (Parađiković, 2014.).

2.4.4. Apsicisnska kiselina

Apsicisnska kiselina (ABA) pronađena je unutar biljnog organizma u svim tkivima i organima, sintetizira se u svim stanicama koje sadrže plastide (kloroplaste i amiloplaste) (Lazarević i Polja, 2019.) ABA je inhibitor rasta biljaka. Njena uloga je značajna kod

opadanja listova i plodova, zatvaranja stoma u stresnim uvjetima i sprječavanju klijanja sjemena u nepovoljnim uvjetima. Upotrebom hormona ABA u kulturi *in vitro* postiže se skladan odnos stimulatora i inhibitora rasta, i pravilan razvoj mladih biljaka (Parađiković, 2014.).

2.4.5. Etilen

Tijekom 19. st. za potrebe ulične rasvjete korišten je zemni plin. Tada je uočeno da drveće u blizini uličnih svjetiljki brže odbacuje lišće od drveća koje je udaljeno od njih. Poslije je otkriveno da sagorijevanjem zemnog plina nastaje etilen, biljni plinoviti hormon. Osim toga, etilen može biti i prirodni produkt metabolizma biljaka, a zbog utjecaja na rast i razvoj biljaka ubraja se među biljne hormone. Može nastati skoro u svim biljnim dijelovima, sinteza etilena pojačava se starenjem organa: starenjem cvata, sazrijevanjem ploda i otpadanjem lišća. Njegovu biosintezu potiče ozljeđivanje tkiva i razni stresni uvjeti (Lazarević i Polja, 2019.).

Etilen utječe na brže sazrijevanje plodova, inhibira izduživanje izdanaka i korijena, sprječava kretanje auksina, potiče brže opadanje listova i plodova, razvoj cvijeta i povećava broj korjenovih dlačica. U kulturi *in vitro*, nakuplja se u biljci i tako ubrzava procese starenja, također negativni efekt etilena je ubrzanje efekta ostakljenja (vitifikacije) izdanka (Parađiković, 2014.).

2.5. Utjecaj hormona na *Callistephus chinensis*

Regulatori rasta imaju važnu ulogu u morfologiji i fiziologiji biljaka i njihov učinak varira ovisno o biljkama, vrstama, raznolikosti, upotrebom koncentracija, načinom primjene, učestalosti primjene itd. Folijarno tretiranje China aster-a 30 dana nakon presađivanja sa GA₃ 130 ppm rezultiralo je ranim cvjetanjem, povećanjem broja cvjetova po biljci i težine suhog cvijeća. Primjena Alar-a također je donijela bolje parametre kvalitete cvjetova. Prskanje sa BA 40 ppm poboljšava „vase life“ (Maurya i sur., 2017.).

Postoje mnogo istraživanja koja govore o djelovanju GA₃ na China aster. Tri sorte China aster-a prskane su sa GA₃ @ 250 trideset i četrdeset dana nakon presađivanja. Značajno rano pojavljivanje pupoljaka do potpunog cvjetanja cvijeća i dugovječnosti cvjetova na biljci,

veći promjer cvijeta i svježje i suhe težine deset cvjetova zabilježeno u cv. Poornima. Cv. Kamini su pokazali značajno veću visinu biljke i površinu lišća, duže trajanje cvatnje i težinu cvijeća po biljci. Broj cvjetova po biljci bio je maksimalno zabilježen u cv. Violet Cusion (Sharma i Joshi, 2015.).

Rezultati eksperimenta tijekom sezone 2005./2006. pokazali su da je maksimalni prinos po biljci, po parceli i po hektaru te rast u smislu visine biljaka, grana po biljci, lišća po biljci i promjera stabljike zabilježen u onim biljkama koje su tretirane s GA3 200 ppm. U tretmanu GA3 100 ppm zabilježeno je rano cvjetanje i 50-postotna cvatnja (Nandre i sur., 2009.).

Prema rezultatima terenskog ekerimenta u Bangaloru, Indija tijekom 2010. i 2011. godine za povećanje visine biljke i induciranje ranog cvjetanja pokazalo se da je GA3 na 150 ppm najbolji. Za produljenje trajanja cvjetanja predložena je primjena CCC na 2000 ppm (Srikanth i sur., 2013.).

Sindhuja i sur., (2018.) proučavali su djelovanje regulatora rasta na prinos cvijeta i „vase life“ na jednomjesečnim sadnicama lijepe kate. Koristili su GA₃, NAA, CCC i njihove različite koncentracije uz kontrolu. Rezultati su pokazali kako su maksimalni promjer (6,21 cm), težina (5,5 g), prinos po ha (12,58 t) zabilježeni kod primjene GA₃ @ 200 ppm. Minimalno trajanje inicijacije pupoljaka (51,67), minimalno dana do cvatnje (65,86), maksimalan „vase life“ (9 dana) zabilježen je kod primjene CCC @ 1500 ppm. Maksimalan broj dana do stvaranja pupoljka i cvijeta zabilježen je u kontroli. Prema ovim rezultatima zaključili su kako je za komercijalan uzgoj lijepe kate preporučljiva primjena GA3 @ 200.

Munikrishnappa i Chandrasheker (2014.) u svom istraživanju su također koristili GA3 i CCC. Prskanje GA3 pri 200 ppm produžilo je cvjetanje China aster-a, povećalo broj cvjetova po biljci, promjer (4,86 cm), težinu cvijeća (3,26 g), prinos cvijeća po biljci (111,2 g) i život u vazi (22,88 dana). Primjena CCC pri 1500 ppm zabilježila je najveći prinos cvijeća i parametre kvalitete cvijeća. Natapanjem tla sa paklobutrazolom 200 ppm odgođeno je cvjetanje, dok je rano cvjetanje opaženo s 25 ppm. Primjena MH na 1000 ppm rezultirala je minimalnom visinom biljke, dužinom internodija, brojem listova po biljci i površini lista.

Potvrdu o djelovanju GA3 i MH na *Callistephus chinensis* donosi i ovo istraživanje. Sadnice su poprskane s GA3 na 100 ili 200 p.p.m. ili maleinski hidrazid (MH) pri 200 ili 400 p.p.m. 15 dana nakon presađivanja i još dva puta u razmacima od 10 dana. Kod obje vrste, najbolji rezultati s obzirom na broj cvijeća / biljke i prinos sjemena dobiveni su s GA3 pri 200 p.p.m. Tretiranje s MH pri 400 p.p.m. smanjilo je vegetativni rast, cvjetanje i prinos sjemena (Syamal i sur., 1990.).

Vinutha i sur. (2017.) proučavali su učinak biostimulatora na rast, cvjetanje i kvalitetu China aster-a. Biljke su folijarno tretirane u 4 tretmana (45, 60, 75 i 90 dana poslije presađivanja) sa dvije koncentracije biostimulatora. Tretiranjem GA3 @ 200 ppm zabilježena je maksimalna visina biljke, broj lišća, i površina lista po biljci, debljina stabljike, broj primarnih i sekundarnih grana i ukupna masa po biljci te maksimalna dužina stabljike. Minimalan broj dana do početka inicijacije cvjetnih pupoljaka također je registriran kod GA3 @ 200 ppm. Maksimalna kvaliteta cvijeća, vijek trajanja i „vase life“, kao i promjer cvijeta zabilježen je kod biljaka tretiranim Azospirillum @ 8 %.

Proučen je učinak folijarne primjene regulatora rasta na prinos sjemena *Callistephus chinensis*. Različiti regulatori rasta značajno su utjecali na težinu sjemena po biljci. Tri najveće težine sjemena po biljci zabilježene su iz tretmana s 200 ppm GA3 (7,21 g), 100 ppm IAA (6,41 g) i 100 ppm GA3 (6,21 g). GA3 na 200 ppm također bilježi najveću masu sjemena po hektaru (764,26 kg) i najveću masu 1000 sjemenki (2,35 g) (Geetha i sur., 2000.).

Proveden je terenski eksperiment, folijarno tretiranje China aster-a 20. i 35. dan nakon presađivanja. Prema opažanjima tretiranje sa GA3 200 mg / l bilježi značajno viši prinos sjemena po biljci (9,98 g), prinos sjemena po ha (1509,31 kg) i masu 1 000 sjemenki (2,01 g) (Pavan - Kumar i sur., 2005.).

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno u kontroliranim uvjetima u Laboratoriju za povrćarstvo, cvjećarstvo, ljekovito, začinsko i aromatično bilje na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku tijekom 2019. godine. Spomenuti laboratorij je u potpunosti opremljen za *in vitro* uzgoj biljaka. Materijal koji je korišten u ovom istraživanju je sjeme cvjetne vrste lijepe kate (*Callistephus chinensis* L.) koje je kupljeno u Hrvatskoj, trgovina „Lidl“ (Slika 2.). Istražen je utjecaj različitih koncentracija regulatora rasta na klijavost lijepe kate na filter papiru i *in vitro* hranjivoj podlozi.

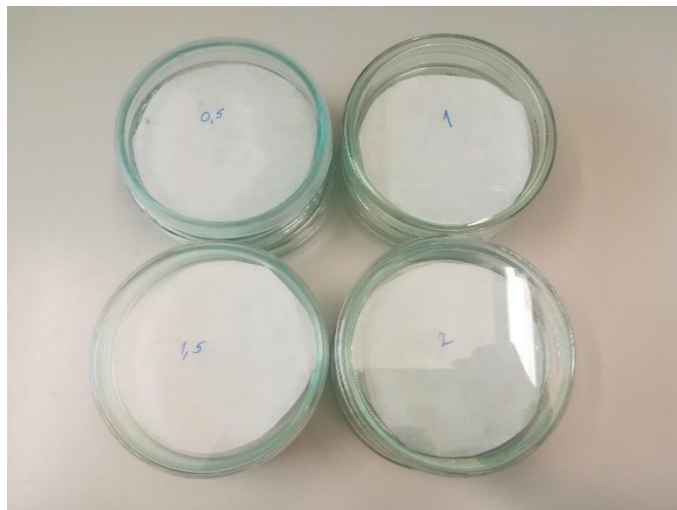


Slika 3. Sjeme vrtnog zvjezdana (Foto original: K. Orlović)

3.1. Ispitivanje klijavosti na filter papiru

Za ovu metodu ispitivanja klijavosti sjemena lijepe kate korišteno je: 15 petrijevih zdjelica, 96 %-tni alkohol, filter papir, škare, različite otopine citokinina, Erlenmeyerove tikvice, pinceta, flomaster, klima komora.

Pripremljeno je 15 petrijevih zdjelica steriliziranih sa 96 %-tnim alkoholom etanolom. U svaku petrijevu zdjelicu postavljen je po 1 filter papir koji je prethodno izrezan po obliku zdjelica (Slika 3.).



Slika 4. Petrijeve zdjelice sa filter papirom (Foto original: K. Orlović)

Sjeme vrtnog zvjezdana je ručno prebrojano, natopljeno u otopine s različitim koncentracijama citokinina (0,5, 1, 1,5, 2) te nakon 24 h raspoređeno po 20 sjemenki u svaku petrijevku. Na zdjelice su flomasterom obilježene određene koncentracije citokinina. Sjemenke natopljene destiliranom vodom bile su kontrola. Istraživanje je rađeno u tri ponavljanja za svaku koncentraciju. Petrijeve zdjelice stavljene su u klima komoru na temperaturu 23 ± 1 °C. Nakon 14 dana potrebnih za analizu zabilježen je broj prokljalih sjemenki, dužina korijena i hipokotila (cm).



Slika 5. Sjeme lijepe kate natopljeno u različite koncentracije citokinina (Foto original: K. Orlović)

3.2. Ispitivanje klijavosti na *in vitro* hranjivoj podlozi

3.2.1. Oprema i pribor korišteni za *in vitro* uzgoj

Za pripremu hranjive podloge korišteni su: precizna vaga, špatule za vaganje, električno kuhalo, lonac, plastična kuhača za miješanje, plastične i staklene menzure, pH metar, pipete, staklene laboratorijske čaše različitih veličina, staklene bočice sa plastičnim poklopcem, Erlenmeyerove tikvice, petrijeve zdjelice (100 x 20 mm), metalne košare.

Kako bi se osigurali potrebni sterilni uvjeti prilikom rada korištena je laminarna komora (Iskra PIO, MC 15-1), a za sterilizaciju materijala i opreme korišten je autoklav (Inko lab d.o.o., vertikalni autoklav). Kultura tkiva se čuvala u klima komori u kontroliranim uvjetima svjetla, temperature i vlage zraka.

Laminarna komora je komora u kojoj struji sterilni zrak i sprječava kontaminaciju materijala. Autoklav (Slika 5.) je uređaj za sterilizaciju opreme, pribora i kemikalija vreloj parom i povišenim tlakom. Klima komora je prostor u kojem se čuvaju kulture tkiva i stanica, a čine ga police, fluorescentne cijevi za osvjetljenje, timer, izvor struje i klima uređaj. Jelaska (1994.) navodi kako su fluorescentne cijevi najbolji izvor osvjetljenja jer imaju pogodan oblik, optimalnu ravnotežu spektra i veću proizvodnju svjetlosti u odnosu na električne žarulje.



Slika 6. Autoklav – uređaj za sterilizaciju (Foto original: K. Orlović)

3.2.2. Priprema i sterilizacija hranjive podloge

Za pripremu MS hranjive podloge osigurana je čista okolina, korišteno čisto posuđe, destilirana voda, kemikalije visoke čistoće te su precizno odmjerene sve komponente podloge.

Tablica 1. Sastav otopina za pripremu hranjive podloge (MS – Murashige & Skoog, 1962.)

Makroelementi (g/L)	
NH ₄ NO ₃	16,5
KNO ₃	19
KH ₂ PO ₄	1,7
CaCl ₂ x 2H ₂ O	4,4
MgSO ₄ x 7H ₂ O	3,7
Mikroelementi (g/100 mL)	
MnSO ₄ x 4H ₂ O	2,2
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0,86
H ₃ BO ₃	0,62
KI	0,083
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0,025
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0,0025
CoCl ₂ x 6H ₂ O	0,0025
Fe otopina (g/10 mL)	
FeSO ₄ x 7H ₂ O	0,744
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈	0,557
Vitamini (g/100 mL)	
B1 Tiamin	0,01
B6 Piridoksin	0,05
Nikotinska kiselina	0,05
Glicin	0,22

Tablica 2. Sastav hranjive podloge

Sastojak	Količina (za 1 L podloge)
Agar	6,4 g
Inozitol	0,1 g
Šećer	30 g
MS makro	100 mL
MS mikro	1 mL
Vitamini	1 mL
Željezo (Fe)	5 mL

Za ovo istraživanje podloge su tretirane sa različitim koncentracijama hormona, razlikovale su se u koncentraciji hormona 6 – benzilaminopurina (BAP) iz grupe citokinina. Pripremljene su podloge sa 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L i 2 mg/L BAP. Sve podloge su sadržavale 1 mg/L IBA-e.

Postupak pripreme podloge:

Destilirana voda se uspe u lonac te se stavi kuhati. Kada se voda malo zagrije dodaje se agar i miješa se dok voda ne prokuha. Nakon toga dodaje se saharoza (šećer) i miješa dok se kristali ne otope. Otopini se dodaje i inozitol koji je također potrebno miješati dok se ne otopi. Pomoću menzure dodaje se potrebna količina otopine makroelemenata, a pipetom potrebna količina otopine mikroelemenata, vitamina, željeza i regulatora rasta. Smjesa se prelije u menzuru i dosipa destiliranom vodom do određenog volumena (1 L). Kada su dodani svi sastojci, pomoću kalibrirane elektrode pH metra, odredi se pH otopine. Dodavanjem malih količina NaOH i HCl prilagođava se pH podloge do željenih 5,8. NaOH se koristi za povećanje pH, a HCl za smanjenje.



Slika 7. Mjerenje pH hranjive podloge (Foto original: K. Orlović)

U smjesu se dodaju regulatori rasta indol-3-maslačna kiselina (IBA) iz grupe auksina i 6-benzilaminopurin (BAP) iz grupe citokinina. Komercijalni auksini i citokinini vrlo malo su topivi u vodi, auksini kao slabe organske kiseline pripremljeni su otapanjem u natrijevom hidroksidu (NaOH), a citokinini koji su slabe baze, u solnoj kiselini (HCl).

Gotova podloga se pomoću manjih čaša izlijeva u petrijeve zdjelice u podjednakom volumenu i zatim sterilizira u autoklavu 45 minuta, na temperaturu od 121 °C i tlak od 1,5 bara.

Agar je želatinasta tvar koja tekući medij pretvara u kruto stanje. Iako se u tu svrhu mogu koristiti i druge tvari (npr. želatina) agar je najpogodniji za kulturu biljnog tkiva. Agar se dobiva ekstrakcijom i sušenjem sluzaste tvari dobivene od morske biljke *Gelidium*, a kao krajnji produkt kupuje se u obliku praha (Jelaska, 1994.).

3.2.3. Sterilizacija biljnog materijala i uvođenje u kulturu

Svi postupci kod *in vitro* razmnožavanja moraju se odvijati u strogo sterilnim uvjetima. Neophodno je prvo dezinficirati biljni materijal odnosno sjemenke *Callistephus chinensis*. Uranjanjem sjemenki vrtnog zvjezdana u otopinu 20 %-tnog $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (varikina) uz dodatak kapi detergenta za pranje posuđa i mućkajući 15 do 20 minuta pripremljen je sterilan materijal za uvođenje u kulturu. Osim dezinfekcije sjemenaka, ovim postupkom su odstranjeni i mjehurići zraka kako se u njima ne bi zadržali patogeni. Nakon sterilizacije sjemenke su ispirane autoklaviranom vodom više puta.

Uvođenje sjemenki u kulturu obavljeno je u sterilnim uvjetima u laminaru, korištenjem sterilnih pinceta što se postiže uranjanjem u sterilizacijski aparat.

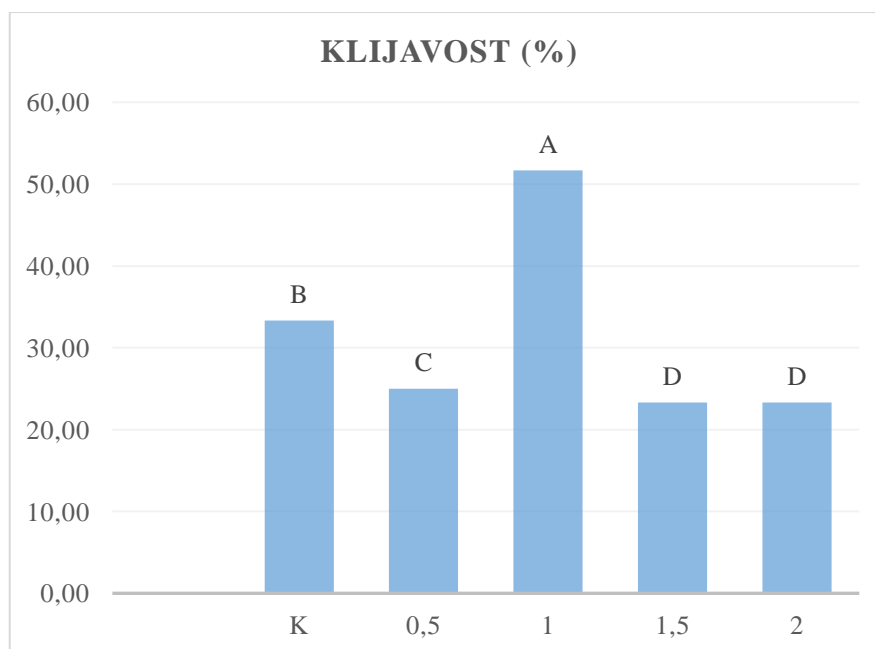
Ukupno je pripremljeno 300 sjemenki lijepe kate, u svaku hranjivu podlogu, sa različitim koncentracijama citokinina (0,5, 1, 1,5, 2) uvedeno je po 60 sjemenki. Sjemenke su položene na hranjivu podlogu, ne u potpunosti zaronjene u da ne bi ostale bez kisika. Svi uzorci su postavljeni u klima komoru na održavanoj temperaturi od ~23 °C.

4. REZULTATI

Nakon 2 tjedna od uvođenja u kulturu, zabilježen je broj prokljalih sjemenki, dužina korijena, dužina hipokotila, te broj vitrificiranih i zagađenih sjemenki.

Podaci svih ispitivanih svojstava statistički su obrađeni analizom varijance (ANOVA) u programu SAS 9.3 (SAS Institute Inc, Cary, NC). Za usporedbu srednjih vrijednosti izračunate su najmanje značajne razlike LSD (engl. Least Significant Differences) na razini $p < 0,05$ u skladu s Fisherovim testom.

4.1. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate na filter papiru

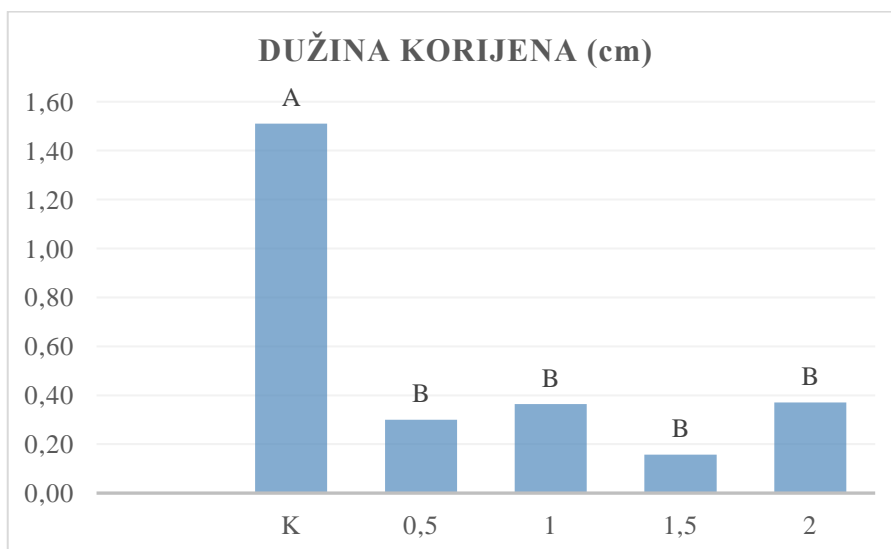


*K – netretirano sjeme; 0,5 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 1. Postotak klijavosti lijepe kate kod uzgoja na filter papiru

Statističkom obradom podataka ispitivanog parametra klijavosti zabilježene su značajne razlike između različitih koncentracija regulatora rasta, kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 1,5 i 2 mg/L vrijednosti su bile jednake. Najveći postotak prokljalih sjemenki 51,60 % zabilježen je kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 1 mg/L.

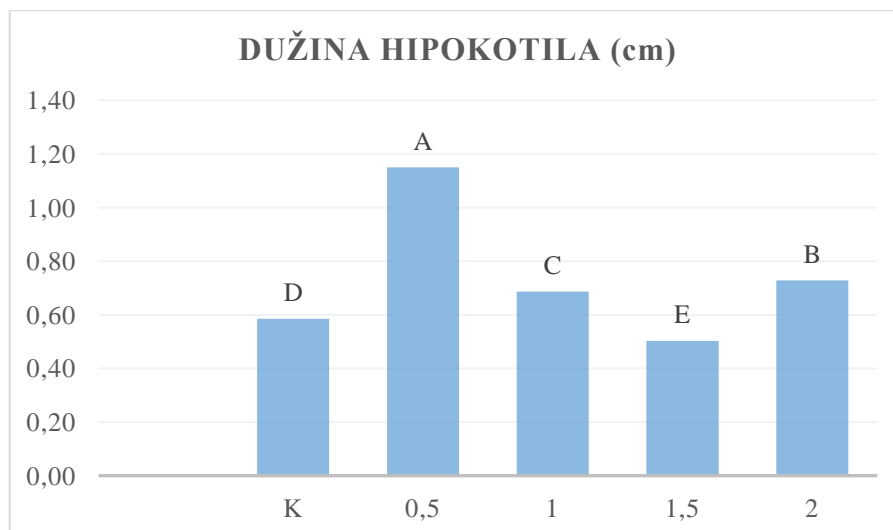
U kontrolnom tretmanu gdje sjeme nije bilo prethodno tretirano regulatorom rasta BAP zabilježen je postotak klijavosti od 33,28 %. Postotak klijavosti kod sjemena tretiranog BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L iznosio je 26 %. Najmanji postotak klijavosti u iznosu od 23,21 % zabilježen je kod tretmana regulatora rasta 1,5 i 2 mg/L (Grafikon 1.).



*K – netretirano sjeme; 0,5 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 2. Prosječna dužina korijena (cm) lijepe kate kod uzgoja na filter papiru

Kod ispitanog parametra dužine korijena kontrolni tretman se značajno razlikuje u odnosu na ostale tretmane koji se međusobno značajno ne razlikuju. Prosječna dužina korijena u kontrolnom tretmanu je 1,52 cm. Tretman regulatorom rasta BAP u koncentraciji 2 mg/L bilježi prosječnu dužinu korijena od 0,37 cm. Nešto manja prosječna dužina zabilježena je kod tretmana regulatorom rasta BAP 1 mg/L i iznosi 0,36 cm, a kod tretmana BAP 0,5 mg/L prosječna dužina korijena je 0,30 cm. Najmanja prosječna dužina korijena iznosi 0,16 cm (Grafikon 2.).



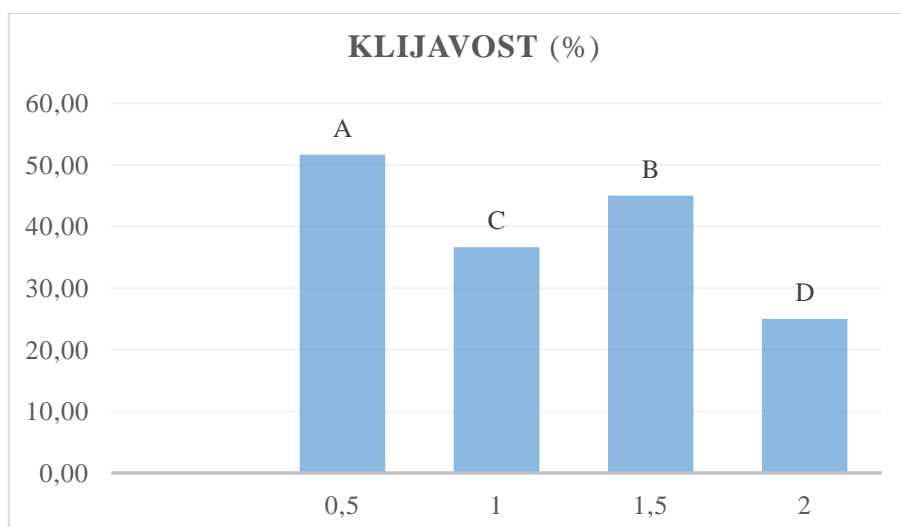
*K – netretirano sjeme; 0,5 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 - sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 3. Prosječna dužina hipokotila (cm) lijepe kate kod uzgoja na filter papiru

Grafički prikaz prosječne dužine hipokotila (cm) lijepe kate kod uzgoja na filter papiru prikazuje značajne razlike između različitih koncentracija regulatora rasta. Najviše vrijednosti zabilježene su kod tretmana regulatorom rasta BAP 0,5 mg/L a iznosi 1,15 cm. Kod sjemena tretiranog BAP-om 2 mg/L zabilježena je prosječna dužina hipokotila 0,73 cm. Kod tretmana regulatorom rasta BAP u koncentraciji 1 mg/L dobivena vrijednost je 0,69 cm. Kontrolni tretman, odnosno netretirano sjeme bilježi prosječnu dužinu hipokotila 0,59 cm. Najmanja vrijednost 0,50 cm dobivena je kod tretmana regulatorom rasta 1,5 mg/L (Grafikon 3.).

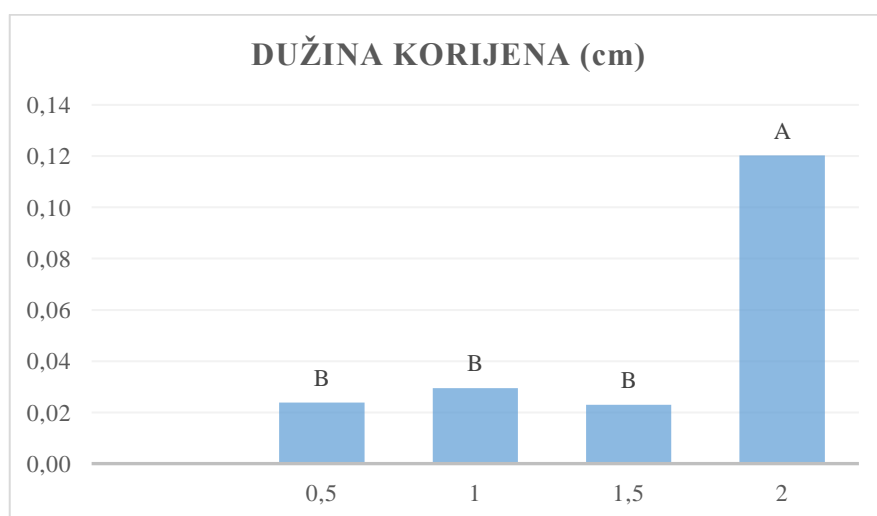
4.2. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate *in vitro*

Statističkom obradom podataka zabilježena je značajna razlika između svih ispitivanih tretmana. Najveći postotak klijavosti iznosi 51,17 % a zabilježen je kod tretmana regulatora rasta BAP 0,5 mg/L. Kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 2 mg/L zabilježen je najmanji postotak klijavosti (Grafikon 4.).



*0,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 4. Postotak klijavosti (%) lijepe kate u *in vitro* uzgoju

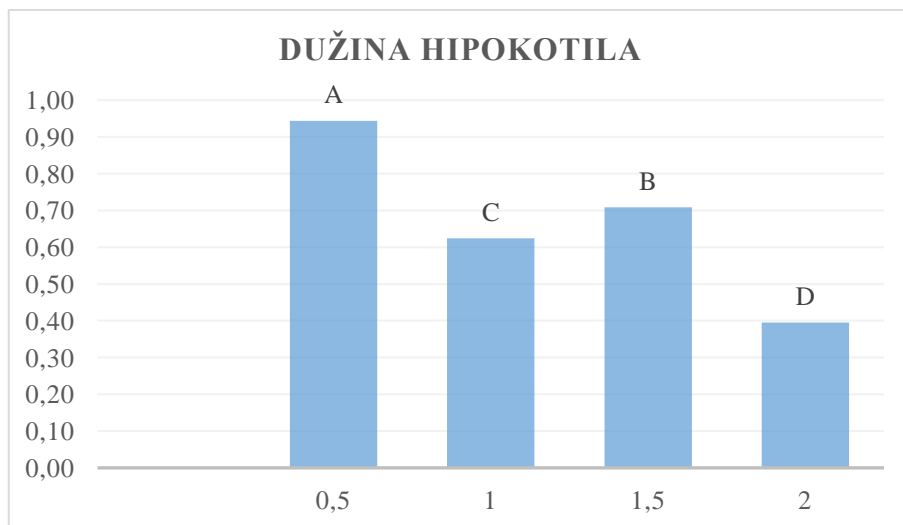


*0,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 5. Prosječna dužina korijena (cm) lijepe kate u *in vitro* uzgoju

Kod ispitanog parametra dužine korijena tretman regulatora rasta 2 mg/L značajno se razlikuje od svih ostalih, među kojima nije zabilježena značajna razlika. Najveća prosječna dužina korijena iznosi 0,12 cm. Najmanja prosječna dužina korijena iznosi 0,2 cm, a

zabilježena je kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 0,5 i 1,5 mg/L (Grafikon 5.).

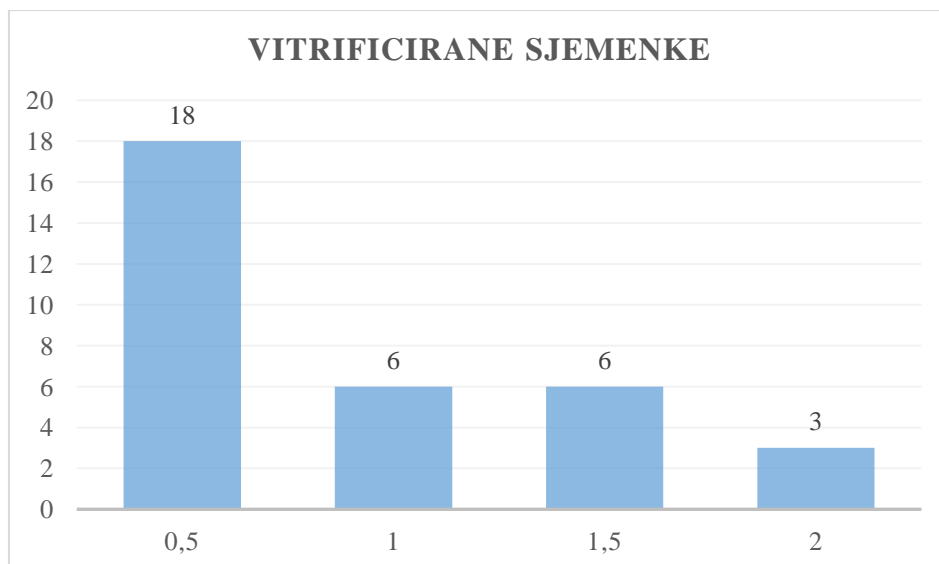


*0,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 - hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 6. Prosječna dužina hipokotila (cm) lijepe kate u *in vitro* uzgoju

Dobiveni rezultati u grafikonu 6 prikazuju značajnu razliku između svih ispitanih tretmana. Najveća prosječna dužina hipokotila 0,95 cm zabilježena je kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 0,5 mg/L. Podloga tretirana BAP-om 1,5 mg/L bilježi prosječnu dužinu hipokotila 0,71 cm. Kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 1 mg/L zabilježena je dužina 0,62 cm. Najmanja prosječna dužina hipokotila je 0,40 cm, kod tretmana regulatora rasta BAP 2 mg/L.

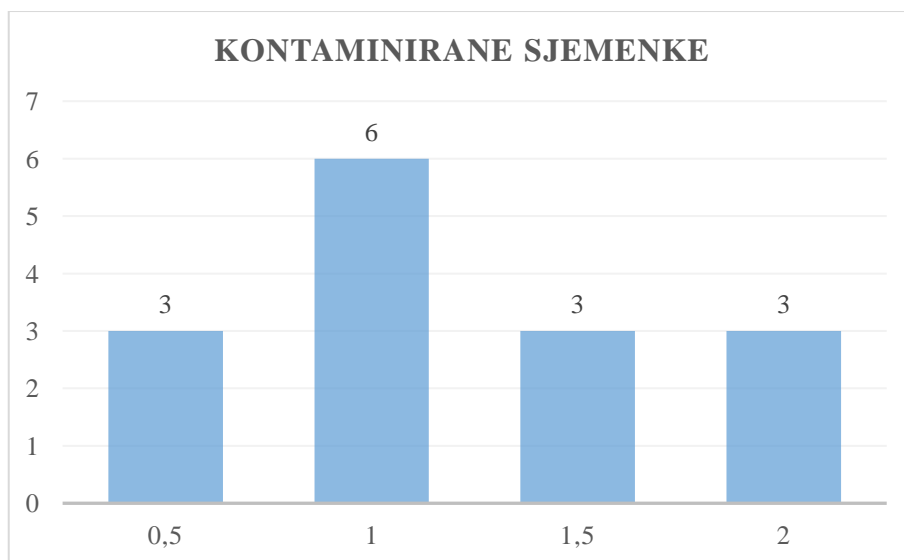
Najveći broj vitrificiranih sjemenki zapaženo je kod tretmana regulatora rasta BAP u koncentraciji 0,5 mg/L. Tretmani sa koncentracijom BAP 1 i 1,5 mg/L bilježe 6 vitrificiranih sjemenki, dok je najmanji broj vitrificiranih sjemenki zapaženo kod tretmana BAP 2 mg/L (Grafikon 7.).



*0,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 - hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 7. Broj vitrificiranih sjemenki lijepe kate u *in vitro* uzgoju

U *in vitro* uzgoju kod tretmana regulatorom rasta BAP u koncentraciji 1 mg/L zapaženo je 6 kontaminiranih sjemenki. U ostalim tretmanima zabilježeno je 3 kontaminirane sjemenke (Grafikon 8.).



*0,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L; 1 - hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1 mg/L; 1,5 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L; 2 – hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 2 mg/L. Stupci označeni različitim slovima statistički značajno se razlikuju.

Grafikon 8. Broj kontaminiranih sjemenki lijepe kate u *in vitro* uzgoju

5. RASPRAVA

Regulatori rasta su odgovorni za procese rasta i razvitka biljaka. Tu spadaju auksini, citokinini, giberelini, apscisinska kiselina (ABA) i etilen. Biljke koje se razmnožavaju *in vitro* za rast i razvoj zahtijevaju određenu količinu hormona, odnosno regulatora rasta (Parađiković, 2014.).

Tijekom ovog istraživanja ispitana je klijavost lijepe kate (*Callistephus chinensis*) na filter papiru i *in vitro* hranjivoj podlozi pod utjecajem različitih koncentracija regulatora rasta citokinina.

5.1. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate na filter papiru

Tretmani kod ispitivanja klijavosti na filter papiru obilježeni su oznakama: K (netretirano sjeme); 0,5 (sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L); 1 (sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1 mg/L); 1,5 (sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L); 2 (sjeme tretirano BAP-om u koncentraciji 2 mg/L).

Dobiveni rezultati pokazuju kako različita koncentracija hormona citokinina različito djeluje na klijavost lijepe kate. Najveći postotak klijavosti zabilježen je kod tretmana regulator rasta BAP 1 mg/L i statistički se značajno razlikuje u odnosu na ostale tretmane. Tretmani sa koncentracijama BAP 0,5, BAP 1,5 i BAP 2 mg/L bilježe značajno manji postotak klijavosti ispitane cvjetne vrste u odnosu na kontrolu.

Sjeme je kupljeno u trgovačkom centru, na deklaraciji nije naveden podatak o klijavosti sjemena te u Republici Hrvatskoj zakonski nije obavezan. Mitrović (2015.) je ispitivao klijavost netretiranog sjemena *Callistephus chinensis* na filter papiru i rezultate usporedio sa podacima navedenim na deklaraciji sjemena. Prema rezultatima, klijavost lijepe kate iznosila je 82,76 % što je za 4, 24 % manje od propisane na deklaraciji proizvođača ali radi se o vrlo dobrom sjemenu. Međutim, u ispitivanju klijavosti nasumično odabranih cvjetnih vrsta u maloprodajnim prodavaonicama sjeme je bilo loše klijavosti ili nije uopće klijavu (Horvat, 2012.).

Najvažniji parametri koji određuju kvalitetu sjemena su klijavost sjemena i energija klijanja. Kako bi biljke bile pogodne za sjetvu na mjesto uzgoja vrlo je važno da sjeme bude dobre kvalitete (Kastori, 1984.). Provode se mnoge studije za procjenu učinka tretiranja sjemena različitim koncentracijama citokinina i njihov utjecaj na klijanje i rast. Sjeme pšenice prije sjetve tretirano je s različitim koncentracijama (100, 150 i 200 mg/L) citokinina i postavljeno u Petrijeve posude u klima komori. Kinetin se pokazao učinkovitim u povećanju klijavosti i ranom rastu sadnica (Iqbal i sur., 2006.). Kumaran i sur. (1992.) ispitali su utjecaj hormona citokinina na klijavost i rast sjemena *Azadirachta indica*. Prema rezultatima, klijanje je poboljšano kinetinom pri nižim koncentracijama.

Tretiranje sjemena različitim koncentracijama citokinina nije pozitivno utjecalo na dužinu korijena. Naime, kod svih tretmana zabilježena je značajno manja prosječna dužina korijena (cm) nego kod netretiranog sjemena. Između tretmana sa različitim koncentracijama citokinina nije zabilježena značajna razlika. Najveća dužina postignuta je tretmanom BAP 2 mg/L. Istraživanje koje su proveli Suo i sur. (2017.) također prikazuje kako su različite koncentracije BAP-a značajno inhibirale dužinu korijena. Različite koncentracije hormona BAP značajno su utjecale na dužinu hipokotila klijanaca lijepe kate. Najbolji rezultat od 1,15 cm zabilježen je kod tretmana regulatorom rasta BAP 0,5 mg/L. Kod ostalih tretmana, osim kod BAP 1,5 mg/L zabilježene su značajno veće vrijednosti u odnosu na kontrolni tretman. Zapaženo je kako regulator rasta BAP 1,5 mg/L kod oba ispitana parametra bilježi najmanju vrijednost, stoga se može reći kako BAP pri koncentraciji 1,5 mg/L djeluje kao inhibitor rasta. Khan i Rizvi (1993.) bavili su se utjecajem kinetina na rast *Atriplex griffithii* var. *stocksii* na filter papiru. Kinetin je dobro utjecao na dužinu korijena i hipokotila. Najveća dužina korijena postignuta je tretmanom kinetinom s 0,46 μ M, a najveća dužina hipokotila tretmanom kinetinom s 46 μ M.

5.2. Utjecaj regulatora rasta citokinina na klijavost lijepe kate *in vitro*

Tretmani kod ispitivanja klijavosti *in vitro* obilježeni su oznakama: 0,5 (hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L); 1 (hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1 mg/L); 1,5 (hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 1,5 mg/L); 2 (hranjiva podloga s BAP-om u koncentraciji 2 mg/L).

Rezultati klijavosti lijepe kate na u *in vitro* uzgoju prikazuju značajnu razliku između svih tretmana. Najveći postotak klijavosti 51,17 % dobiven je na hranjivoj podlozi s koncentracijom BAP 0,5 mg/L. Najmanji postotak proklijalog sjemena je 25 % a zabilježen je kod tretmana BAP-om u koncentraciji 2 mg/L.

Mnoga istraživanja dokazuju kako *in vitro* uzgoj biljaka ima mnogo prednosti u odnosu na uzgoj u tlu. Klijanje sjemena citrusnog *reticulata* bilo je bolje na mediju Murashige i Skoog (MS) uz 0,5 mg dm⁻³ benzilaminopurina (BAP) nego u tlu (Hannanein i Azooz, 2003.).

Proučavan je utjecaj različitih koncentracija citokinina i auksina na klijavost i razvoj sjemena *Digitalis purpurea* L. na MS hranjivoj podlozi. Pokazalo se kako dodavanje tih hormona u medij značajno povećava klijavost (Pati i sur., 2012.).

Biljni hormoni rijetko djeluju sami, za većinu procesa djeluju s drugim tvarima kako bi proizveli konačan učinak (Gaspar i sur., 1996.). Jedini pojedinačni hormonski tretman koji je statistički značajno povećao klijavost proveden je na biljci *Ferula assafoetida* L. Klijanje je povišeno sa 53,3 % u mediju bez ikakvih hormona do 74,4 % u mediju dodavanjem 0,25 mg/L BAP (Otroshy i sur., 2009.).

Prema rezultatima o dužini korijena najbolji utjecaj ima regulator rasta BAP 2 mg/L i statistički se značajno razlikuje od ostalih tretmana. Tretmani sa koncentracijom BAP 0,5, 1 i 1,5 međusobno se značajno ne razlikuju. Najveća dužina korijena iznosi 0,12 cm, a najmanja 0,2 cm. Rezultati o dužini hipokotila suprotni su od navedenih. Najveća dužina je u kod tretmana BAP-om u koncentraciji 0,5 mg/L, a najmanja BAP-om 2 mg/L. Svi tretmani se statistički razlikuju. Nikolić i sur. (2006.) istraživali su utjecaj hormona TDZ, BAP, ZEA, KIN i 2iP na klijavost sjemena, produljenje izdanka i korijena sadnica *Lotus corniculatus* L. na MS podlozi. Zabilježen je inhibitorni učinak svih navedenih hormona na produljenje izdanaka i korijena.

Zeljaste i drvenaste biljke koje se razmnožavaju *in vitro* često su pod utjecajem suviše prisutnosti različitih čimbenika koji dovode do metaboličkih i morfoloških poremećaja. Anatomske, morfološke i fiziološke anomalije u tkivima uzgojenim kulturama opisane su kao vitrifikacija, hiperhidratacija, prozirnost i dr. Iako je vitrifikacija pogrešno korišten izraz jer se odnosi na fizički, a ne na biološki proces, najčešće se koristi, jer opisuje promjene na

na lišću, što daje staklasti izgled (Ziv, 1991.). Broj vitrificiranog sjemena tijekom svih provedenih tretmana je 33.

Tijekom svih tretmana uočeno je ukupno 15 kontaminiranih sjemenki lijepe kate. Bakterije, gljivice i kvasci u kulturi tkiva postaju konkurenti za hranidbene sastojke. Mikroorganizmi se brže razmnožavaju i stvaraju toksine koji uništavaju bilje stanice (Jelaska, 1994.).

6. ZAKLJUČAK

Na temelju istraživanja provedenog u laboratoriju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, tijekom 2019. godine, vezano za utjecaj regulatora rasta na klijavost lijepe Kate može se zaključiti sljedeće:

1. Utvrđen je statistički značajan utjecaj koncentracije hormona na sve ispitivane parametre (broj prokljalih sjemenki, dužina korijena, dužina hipokotila) kod cvjetne vrste *Callistephus chinensis*.
2. Rezultati klijavosti na filter papiru prikazuju statistički značajnu razliku između tretmana s različitim koncentracijama citokinina. Najveći postotak klijavosti je 51,60 %, zabilježen je kod tretmana regulatorom rasta BAP 1 mg/L, jedino taj tretman bilježi veći postotak od kontrolnog tretmana.
3. Različite koncentracije BAP-a značajno inhibiraju razvoj korjenovog sustava, svi tretmani prikazuju manje rezultate u odnosu na kontrolu. Najveća prosječna dužina korijena zabilježena kod tretmana BAP-om 2 mg/L.
4. Kod ispitanog parametra dužine hipokotila zabilježen je značajan utjecaj različitih koncentracija citokinina. Najbolji rezultat zabilježen je kod tretmana regulatorom rasta BAP 0,5 mg/L.
5. BAP u koncentraciji 1,5 mg/L djeluje kao inhibitor rasta kod ispitanih parametara dužine korijena i hipokotila tijekom uzgoja na filter papiru i kod tih tretmana su zabilježene najmanje vrijednosti.
6. Ispitivanje klijavosti u uvjetima *in vitro* pokazalo je slične postotke kao i na filter papiru. Najveća klijavost iznosila je 51,17 % pri koncentraciji BAP 0,5 mg/L. Najmanji postotak prokljalog sjemena je 25 % a zabilježen je kod tretmana BAP-om u koncentraciji 2 mg/L.
7. Izmjerene su vrlo male vrijednosti dužine korijena kod uzgoja *in vitro*. Najveća prosječna dužina korijena zabilježena je kod tretmana regulatora rasta BAP 2 mg/L i jedini se značajno razlikuje od ostalih tretmana. Najmanji utjecaj je imao BAP 0,5 mg/L, dok je kod ispitanog parametra dužine hipokotila BAP u toj koncentraciji zabilježio najveći utjecaj. Najmanja dužina je u kod tretmana BAP-om u koncentraciji 2 mg/L.

7. POPIS LITERATURE

1. Badek, B., van Duijn, B., Grzesik, M. (2006.): Effects of water supply methods and seed moisture content on germination of China aster (*Callistephus chinensis*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *European Journal of Agronomy*. 24(1): 45-51.
2. Bari, R. i Jones, J.D.G. (2009.): Role of plant hormone in plant defence responses. U: Bari, R. i Jones, J.D.G. (ur.) *Plant Molecular Biology*. 69: 473-488.
3. Davies, P.J. (2010.): *The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions*. U: Davies P.J. (ur.) *Plant Hormones*. Springer, Dordrecht, 1-15.
4. Dubravec, K-D., Regula, I. (1995.): *Fiziologija bilja*. Školska knjiga, Zagreb.
5. Feng, H. (2010.): The effect of microwave treatment on germination, vigour and health of China aster (*Callistephus chinensis* Ness.) seeds. *Journal of Agricultural Science*. 2(4): 201-210.
6. Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., i sur. (1996.): Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. U: *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 32: 272 – 289.
7. Geetha, K., Sadawarte, K.T., Mahorkar, V.K., Joshi, P.S., Deo, D.D. (2000.): A note on the effect of foliar application of plant growth regulators on seed yield in China aster. *Orissa Journal of Horticulture*, 28(2): 113-114.
8. Grzesik, M., Dawidowicz-Grzegorzewska, A. and Górnik, K. (2000.): Effects of matricconditioning with Micro-Cel E of *Callistephus chinensis* L. seeds on germination, seedling emergence, stress tolerance and some metabolic events. *Acta Hortic*. 517: 121-130.
9. Grzesik, M., Górnik, K., Chojnowski, M.G. (1997.): Maternal effects on *Callistephus chinensis* seed yield and quality. U: Ellis, R.H., Black, M, Murdoch, A.J., Hong, T.D. (ur).
10. Basic and applied aspects of seed biology. *Current plant science and biotechnology in agriculture*. Springer, Dordrech, 129-135.
11. Hassanein, A., Azoos, M. (2003.): Propagation of *Citrus reticulata* via *in vitro* seed germination and shoot cuttings. U: Hassanein, A., Azoos, M. (ur.) *Biologia plantarum*. 47:173.

12. Horvat, D. (2012.): Kljavost sjemena cvjetnih vrsta na tržištu Hrvatske. Glasnik zaštite bilja, 3/2012, 10-17.
13. Iqbal, M., Asharaf, M., Jamil, A. (2006.): Seed enhancement with cytokinins: changes in growth and grain yield in salt stressed wheat plants. U: Iqbal, M., Asharaf, M., Jamil, A. (ur.) Plant growth regulation. 50:29.
14. Jelaska, S. (1994.): Kultura biljnih stanica i tkiva: temeljna istraživanja i primjena. Školska knjiga, Zagreb.
15. Kastori, R. (1984.): Fiziologija semena. Matica Srpska, Novi Sad.
16. Khan, M. A., Rizvi, Y. (1993.): Effect of salinity, temperature, and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. Canadian Journal of Botany, 72(4), 475-479.
17. Kumaran, K., Palani, M., Jerlin, R., Surendran, C. (1992.): Effects of growth regulators on seed germination and seedling growth of neem (*Azadirachta indica*). Jurnal od Tropical Forest Science, 6(4), 529-532.
18. Lazarević, B., Polja, M. (2019.): Fiziologija bilja. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
19. Mitrović, M. (2015.): Ispitivanje kljavosti lijepe kate (*Callistephus chinensis* L.) i Dragoljuba (*Tropaeolum majus* L.). Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek.
20. Munikrishnappa, P.M., Chandrasheker, S.Y. (2014.): Effect of growth regulators on growth and flowering of China aster [*Callistephus chinensis* (L.) NEES.]. Agricultural Reviews, (35): 57-63.
21. Nandre, D.R., Navandar, U.O., Watane, A.D. (2009.): Effect of growth regulators on growth, flowering and yield of China aster. Asian Journal of Horticulture, 4(1): 50-51
22. Nikolić, R., Mitić, N., Miletić, R., Nešković, M. (2006.): Effects of cytokinins on in vitro seed germination and early seedling morphogenesis in *Lotus corniculatus* L. Journal of Plant Growth Regulation, 25, 187-194
23. Osugi, A., Sakakibara, H. (2015.): Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance?. BMC Biology, 13:102
24. Otrshy, M., Zamani, A., Khodambashi, M., Ebrahimi M., Struik, P.C. (2009.): Effect od Exogenous hormones and chilling on dormancy breaking of seed od Asafoetida (*Ferula assafoetida* L.). Research journal of seed science, 2: 9-15.
25. Parađiković, N. (2014.): Osnove florikulture. Interna skripta, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.

26. Pati, J. G., Ahire, M. L., Nikam, T. D. (2012.): Influence of plant growth regulators on in vitro seed germination and seedling development of *Digitalis purpurea* L. The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology, 6, 12-18.
27. Pavan - Kumar, K., Padmalatha, T., Pratap, M., Narender-Reddy, S. (2005.): Effect of plant Bio-Regulators on Growth, Flowering and Seed yield in *China aster* (*Callistephus chinensis* L. Nees) CV Kamini. Indian Journal of Agricultural Research, 4: 348-352.
28. Ragini, M., Singh, S.P. i Singh, A.K. (2017.): Effect od GA₃, Alar and Ba on Flowering and Vase Life in China Aster (*Callistephus chinensis*). Int.J,Curr.Microbiol.App.Sci. 6 (12): 3148-3151.
29. Sharma, M.K., Joshi, K.I. (2015.): Effect of foliar spray of GA₃ and NAA on growth flowering and yield of China aster (*Callistephus chinensis* Nees) cultivars. International Journal of Agricultural Science and Research, 5(4): 105-110.
30. Sindhuja, M., Prasad, V.M. i Koradakera, V. (2018.): Effect of Different Plant Growth Regulators and their Levels on Floral Yield and Vase Life of China Aster [*Callistephus chinensis* (L.) Nees] cv. Shashank. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 7(01): 3391-3396.
31. Srikanth, L.G., Gopinath, G., Manohar, R.K. (2013.): Influence of growth regulators on growth and flowering of China aster [*Callistephus chinensis* (L.) Nees]. Mysore Journal of Agricultural Sciences, 47(1): 187-190.
32. Suo, H. C., Li, W., Wang, K. H., Ashraf, U., Liu, J. H., Hu, J. G., Li, Z. J., Zhang, X. L., Xie, J., Zheng, J. R. (2017.): Plant growth regulators in seed coating agent affect seed germination and seedling growth of sweet corn. Applied ecology and environmental research, 15(4), 829-839
33. Syamal, M.M., Rajput, C.B.S., Upadhyay, R.K., Singh, J.N. (1990.): Effects of GA₃ and MH on growth, flowering and seed yield of marigold and China aster. Indian Journal of Horticulture, 47(4): 439-441.
34. Teklić, T. (2012.): Fiziologija bilja u povrćarstvu i cvjećarstvu. Interna skripta, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
35. Vinutha, D.B., Hemla Naik, B., Chandrashekar, S.Y., Thippeshappa, G.N., i Kantharaj, Y. (2017.): Efficacy of Biostimulants on Growth, Flowering and Quality of China aster cv. Kamini. International Journal of Plant & Soil Science, 20(2): 1-5.

36. Ziv, M. (1991.): Vittrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. U: Debergh, P.C., Zimmerman, R.H. (ur.) Micropropagation. Springer, Dordrecht.
37. Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., Schmölling, T. (2001.): Regulation of plant growth by cytokinin. PNAS, 98(18): 10487-10492.
38. Yakhin, O.I., Lubyantov, A.A., Yakhin, I.A. i Brown, P.H. (2017): Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. Front. Plant Sci. 7: 2049.
39. <https://www.plantea.com.hr/lijepa-kata> (1.7.2019.)
40. <https://optolov.ru/hr/santehnika/astra-kitaiskaya-callistephus-chinensis-kitaiskaya-astra-vyrashchivanie-iz.html> (3.7.2019.)

8. SAŽETAK

Istraživanje je provedeno 2019. godine u Laboratoriju za povrćarstvo, cvjećarstvo, ljekovito, začinsko i aromatično bilje na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku. Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih koncentracija regulatora rasta na klijavost *Callistephus chinensis* na filter papiru i *in vitro* hranjivoj podlozi. Korišteni biljni materijal je sjeme lijepe kate (*Callistephus chinensis* L.). Za postavljanje pokusa pripremljeno je ukupno 15 petrijevih zdjelica steriliziranih 96%-tnim etanolom. Sjemenke Lijepe kate postavljene su na filter papir u petrijeve zdjelice i na MS hranjivu podlogu (Murashige i Skoog, 1962.) sa regulatorima rasta. Sjemenke natopljene destiliranom vodom bile su kontrola. Pokus je postavljen u tri ponavljanja te odložen u klima komoru na temperaturi 23 ± 1 °C kroz 14 dana. Ispitani parametri su: klijavost sjemena (%), dužina korijena (cm) i dužina hipokotila (cm). Kod *in vitro* uzgoja zabilježen je broj vitrificiranih i kontaminiranih klijanaca. Rezultatima ovog istraživanja utvrđen je značajan utjecaj različitih koncentracija citokinina na sve ispitane parametre. Najveći postotak klijavosti kod uzgoja na filter papiru je 51,60 %, zabilježen je kod tretmana regulatorom rasta BAP 1 mg/L, jedino taj tretman bilježi veći postotak od kontrolnog tretmana. Kod *in vitro* uzgoja najveći postotak klijavosti je 51,17 % pri koncentraciji BAP 0,5 mg/L. Različite koncentracije BAP-a značajno inhibiraju razvoj korjenovog sustava, svi tretmani biježe vrlo male vrijednosti. BAP u koncentraciji 1,5 mg/L djeluje kao inhibitor rasta kod ispitanih parametara dužine korijena i hipokotila tijekom uzgoja na filter papiru, kod tih tretmana su zabilježene najmanje vrijednosti. Kod uzgoja *in vitro* najveća prosječna dužina korijena zabilježena je kod tretmana regulatora rasta BAP 2 mg/L i jedini se značajno razlikuje od ostalih tretmana. Najmanji utjecaj je imao BAP 0,5 mg/L, dok je kod ispitnog parametra dužine hipokotila BAP u toj koncentraciji zabilježio najveći utjecaj. Najmanja dužina je u kod tretmana BAP-om u koncentraciji 2 mg/L.

Ključne riječi: *Callistephus chinensis*, *in vitro*, filter papir, regulatori rasta, klijavost.

9. SUMMARY

The research was conducted in 2019 year at the Laboratory for for vegetable, floriculture, herbs, and spices at the Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek. The focus of the research was to examine the effect of different concentrations of growth regulators on the germination of *Callistephus chinensis* on filter paper and *in vitro* nutrient medium. The plant material that was used is the seeds of the *Callistephus chinensis* L. 15 petri dishes, sterilized with 96% ethanol, were prepared for the experiment. The seeds were placed on filter paper in petri dishes and on MS nutrient medium (Murashige and Skoog, 1962) with growth regulators. The seeds soaked in distilled water is a control. The experiment was set up in three replicates and stored in an air-conditioning chamber at 23 ± 1 ° C for 14 days. The tested parameters are: seed germination (%), root length (cm) and hypocotyl length (cm). The number of vitrified and contaminated seeds was recorded in *in vitro* cultivation. The results of this research determined the significant influence of different concentrations of cytokinins on all parameters tested. The highest percentage of germination on filter paper is 51.60%, it was recorded in the treatment with the growth regulator BAP 1 mg/L, only this treatment recorded a higher percentage than the control treatment. *In vitro* cultivation, the highest percentage of germination was 51.17 % at a BAP concentration of 0.5 mg/L. Different concentrations of BAP significantly inhibit the development of the root system, all treatments have very low values. BAP at a concentration of 1.5 mg/L acts as a growth inhibitor for the test parameters of root length and hypocotyl during cultivation on filter paper, with the least values observed in these treatments. For *in vitro* cultivation, the highest average root length was observed with BAP 2 mg/L growth regulator treatments and is the only one significantly different from other treatments. The BAP had the smallest effect of 0.5 mg/L, whereas in the tested parameter of hypocotyl length, BAP had the highest influence at this concentration. The minimum length is in the case of BAP treatment at a concentration of 2 mg/L.

Key words: *Callistephus chinensis*, *in vitro*, filter paper, growth regulators. germination.

10. POPIS TABLICA

Broj	Naziv tablice	Stranica
Tablica 1.	Sastav otopina za pripremu hranjive podloge (MS – Murashige & Skoog, 1962.)	17
Tablica 2.	Sastav hranjive podloge	18

11. POPIS SLIKA

Broj	Naziv slike	Stranica
Slika 1.	<i>Callistephus chinensis</i> (Izvor: https://i.pinimg.com/originals/e1/a7/ba/e1a7bac39e0713d03eb7e169b783f9a.jpg)	2
Slika 2.	Podjela <i>Callistephus chinensis</i> prema obliku grma (Izvor: https://optolov.ru/hr/santehnika/astra-kitaiskaya-callistephus-chinensis-kitaiskaya-astra-vyrashchivanie-iz.html)	3
Slika 3.	Sjeme vrtnog zvjezdana (Foto original: K. Orlović)	14
Slika 4.	Petrijeve zdjelice sa filter papirom (Foto original: K. Orlović)	15
Slika 5.	Sjeme lijepe kate natopljeno u različite koncentracije citokinina (Foto original: K. Orlović)	15
Slika 6.	Autoklav – uređaj za sterilizaciju (Foto original: K. Orlović)	16
Slika 7.	Mjerenje pH hranjive podloge (Foto original: K. Orlović)	19

12. POPIS GRAFIKONA

Broj	Naziv grafikona	Stranica
Grafikon 1.	Postotak klijavosti lijepe kate kod uzgoja na filter papiru	21
Grafikon 2.	Prosječna dužina korijena (cm) lijepe kate kod uzgoja na filter papiru	22
Grafikon 3.	Prosječna dužina hipokotila (cm) lijepe kate kod uzgoja na filter papiru	23
Grafikon 4.	Postotak klijavosti (%) lijepe kate u <i>in vitro</i> uzgoju	24
Grafikon 5.	Prosječna dužina korijena (cm) lijepe kate u <i>in vitro</i> uzgoju	24
Grafikon 6.	Prosječna dužina hipokotila (cm) lijepe kate u <i>in vitro</i> uzgoju	25
Grafikon 7.	Broj vitrificiranih sjemenki lijepe kate u <i>in vitro</i> uzgoju	26
Grafikon 8.	Broj kontaminiranih sjemenki lijepe kate u <i>in vitro</i> uzgoju	26

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKAKARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Diplomski sveučilišni studij Poljoprivreda, smjer Povrćarstvo i cvjećarstvo

Utjecaj regulatora rasta na klijavost lijepe kate (*Callistephus chinensis* (L.) Ness)

Katarina Orlović

Sažetak:

Istraživanje je provedeno 2019. godine u Laboratoriju za povrćarstvo, cvjećarstvo, ljekovito, začinsko i aromatično bilje na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku. Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih koncentracija regulatora rasta na klijavost *Callistephus chinensis* na filter papiru i *in vitro* hranjivoj podlozi. Korišteni biljni materijal je sjeme lijepe kate (*Callistephus chinensis* L.). Za postavljanje pokusa pripremljeno je ukupno 15 petrijevih zdjelica steriliziranih 96%-tnim etanolom. Sjemenke lijepe kate postavljene su na filter papir u petrijeve zdjelice i na MS hranjivu podlogu (Murashige i Skoog, 1962.) sa regulatorima rasta. Sjemenke natopljene destiliranom vodom bile su kontrola. Pokus je postavljen u tri ponavljanja te odložen u klima komoru na temperaturi 23 ± 1 °C kroz 14 dana. Ispitani parametri su: klijavost sjemena (%), dužina korijena (cm) i dužina hipokotila (cm). Kod *in vitro* uzgoja zabilježen je broj vitrificiranih i kontaminiranih klijanaca. Rezultatima ovog istraživanja utvrđen je značajan utjecaj različitih koncentracija citokinina na sve ispitane parametre. Najveći postotak klijavosti kod uzgoja na filter papiru je 51,60 %, zabilježen je kod tretmana regulatorom rasta BAP 1 mg/L, jedino taj tretman bilježi veći postotak od kontrolnog tretmana. Kod *in vitro* uzgoja najveći postotak klijavosti je 51,17 % pri koncentraciji BAP 0,5 mg/L. Različite koncentracije BAP-a značajno inhibiraju razvoj korjenovog sustava, svi tretmani biježe vrlo male vrijednosti. BAP u koncentraciji 1,5 mg/L djeluje kao inhibitor rasta kod ispitanih parametara dužine korijena i hipokotila tijekom uzgoja na filter papiru, kod tih tretmana su zabilježene najmanje vrijednosti. Kod uzgoja *in vitro* najveća prosječna dužina korijena zabilježena je kod tretmana regulatora rasta BAP 2 mg/L i jedini se značajno razlikuje od ostalih tretmana. Najmanji utjecaj je imao BAP 0,5 mg/L, dok je kod ispitnog parametra dužine hipokotila BAP u toj koncentraciji zabilježio najveći utjecaj. Najmanja dužina je u kod tretmana BAP-om u koncentraciji 2 mg/L.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

Mentorica: dr.sc. Monika Tkalec Kojić

Broj stranica: 40

Broj grafikona i slika: 15

Broj tablica: 2

Broj literaturnih navoda: 40

Broj priloga: -

Jezik izvornika: hrvatski

Gljučne riječi: *Callistephus chinensis*, *in vitro*, filter papir, regulatori rasta, klijavost

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković, predsjednik
2. dr.sc. Monika Tkalec Kojić, mentorica
3. izv.prof.dr.sc. Miro Stošić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Vladimira Preloga 1

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of agrobiotechnical science Osijek

University Graduate Studies, Vegetable and flower growing

Influence of growth regulators on *Callistephus chinensis* (L.) Ness germination

Katarina Orlović

Abstract:

The research was conducted in 2019 year at the Laboratory for vegetable, floriculture, herbs, and spices at the Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek. The focus of the research was to examine the effect of different concentrations of growth regulators on the germination of *Callistephus chinensis* on filter paper and in vitro nutrient medium. The plant material that was used is the seeds of the *Callistephus chinensis* L. 15 petri dishes, sterilized with 96% ethanol, were prepared for the experiment. The seeds were placed on filter paper in petri dishes and on MS nutrient medium (Murashige and Skoog, 1962) with growth regulators. The seeds soaked in distilled water is a control. The experiment was set up in three replicates and stored in an air-conditioning chamber at 23 ± 1 ° C for 14 days. The tested parameters are: seed germination (%), root length (cm) and hypocotyl length (cm). The number of vitrified and contaminated seeds was recorded in *in vitro* cultivation. The results of this research determined the significant influence of different concentrations of cytokinins on all parameters tested. The highest percentage of germination on filter paper is 51.60%, it was recorded in the treatment with the growth regulator BAP 1 mg/L, only this treatment recorded a higher percentage than the control treatment. *In vitro* cultivation, the highest percentage of germination was 51.17 % at a BAP concentration of 0.5 mg/L. Different concentrations of BAP significantly inhibit the development of the root system, all treatments have very low values. BAP at a concentration of 1.5 mg/L acts as a growth inhibitor for the test parameters of root length and hypocotyl during cultivation on filter paper, with the least values observed in these treatments. For *in vitro* cultivation, the highest average root length was observed with BAP 2 mg/L growth regulator treatments and is the only one significantly different from other treatments. The BAP had the smallest effect of 0.5 mg/L, whereas in the tested parameter of hypocotyl length, BAP had the highest influence at this concentration. The minimum length is in the case of BAP treatment at a concentration of 2 mg/L.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: dr.sc. Monika Tkalec Kojić

Number of pages: 40

Number of figures: 15

Number of tables: 2

Number of references: 40

Number of appendices: -

Original in: Croatian

Key words: *Callistephus chinensis*, *in vitro*, filter paper, growth regulators. germination.

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković, chairman
2. dr.sc. Monika Tkalec Kojić, mentor
3. izv.prof.dr.sc. Miro Stošić, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of agrobiotechnical science Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira preloga 1